

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Radka Moravcová

Název práce: Beta-adrenergní signalizace v myokardu potkana při dlouhodobém podávání morfinu

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): RNDr. Lenka Roubalová, Ph.D.

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označit křížkem **jednu** z možností - pomocí dojkliknutí levým tlačítkem myši na šedivě podbarvené pole a výběrem hodnoty "zaškrtnuto")

1. Rozsah práce a její členění

A	přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí	<input checked="" type="checkbox"/>
B	nevyrovnané, členění nelogické nebo rozsah některých částí nekoresponduje s jejich významem	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivé, rozsah některých částí nedostačující	<input type="checkbox"/>
N	nedostatečné	<input type="checkbox"/>

2. Odborná správnost

A	výborná, bez závažnějších připomínek	<input type="checkbox"/>
B	velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (např. nejasnost výkladu, chyby v terminologii, nedokonalý popis metod nebo výsledků)	<input checked="" type="checkbox"/>
C	uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

A	adekvátní, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce	<input checked="" type="checkbox"/>
B	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input type="checkbox"/>
C	s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, velmi málo citací, eventuálně rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu) nebo používání neadekvátních citací	<input type="checkbox"/>

4. Jazyk práce

A	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

5. Formální a grafická úroveň práce

A	výborná, bez překlepů a chyb ve formátování	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky, apod.	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivá, s ojedinělými většími nedostatky (např. vynechání stránky, uvádění obrázků grafů nebo tabulek bez odkazů v textu) nebo s čtenějšími drobnými chybami	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Předkládaná práce Bc. Radky Moravcové se zabývá vlivem dlouhodobého podávání morfinu na beta-adrenergní signalizaci v myokardu potkana. Autorka v připravených preparátech zkoumala expresi trimerních G-proteinů, beta-adrenergních receptorů a opioidních receptorů v závislosti na čtyřech různých dávkách morfinu. Uvedené proteinové struktury byly sledovány v různých membránových preparátech pomocí metod SDS-PAGE, Western blot a vazebných pokusů s radioligandy, rovněž byla sledována jejich distribuce v membránových mikrodoménách (izolovaných za použití různých solubilizačních roztoků) a v rozpustné buněčné frakci. Mezi hlavní výsledky práce patří pozorovaná zvýšená exprese $G\alpha_{i3}$ heterotrimerního G-proteinu, změny v expresi β -AR v případě podávání morfinu v dávkách 1 mg/kg po dobu 28 dní a u stejné dávky následované 7 dny abstinence a zvýšení denzity β_2 -AR v lipidových mikrodoménách při chronickém podávání morfinu v dávce 10 mg/kg/den. Změny v expresi opioidních receptorů nebyly zaznamenány. Výsledky práce naznačují možnost propojení opioidního a β -adrenergního signálního systému v myokardu.

Diplomová práce svým rozsahem (celkem 64 stran textu) i členěním odpovídá standardním požadavkům. Obsáhlý literární přehled i metodická část práce jsou velmi dobře zpracovány, jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují. V literárním úvodu případně v metodách však chybí alespoň stručný přehled týkající se teorie vazebných studií s radioligandy, ze kterého by vyplynulo, proč byly zvoleny uvedené experimentální postupy a jakým způsobem autorka stanovila parametry saturačních vazebných pokusů - chybí matematický popis a vztahy, podle kterých je prováděna nelineární regrese a analýza měřených saturačních křivek.

Práce je napsána srozumitelně a čtivě, získané výsledky pocházejí z dostatečně velkého množství provedených experimentů a jsou dostatečně popsány i diskutovány. Teoretická část textu je doplněna názornými obrázky, také grafická prezentace výsledků je velmi dobrá. Citace literárních zdrojů jsou uvedeny v dostatečné míře, při uvádění odkazů na literaturu autorka používá styl "Novák et al." - dle mého názoru by v česky psané práci mělo být použito spíše "Novák a spol." či "Novák a kol."

Celková formální úprava a jazyková stránka práce je výtečná, nejsou zde prakticky žádné překlepy a pouze zcela ojedinělé gramatické chyby či nepřesná vyjádření (např. na str. 38: "Expresie $G\alpha_s$ proteinu se bohužel nezdařila..." - autorka zajisté míní, že se nepodařilo uvedený protein detekovat a nikoli, že nebyl ve vzorku exprimován.)

Jediná větší výtka směřuje ke slovnímu popisu statistické významnosti prezentovaných výsledků. Opakované formulace autorky ve výsledkové části "Statistická významnost byla snížena (měřena nebo zamítnuta) na hladině $p < 0,05$ " a podobné výrazy jsou nešťastné a přinejmenším zavádějící (ne-li přímo nesprávné). Čtenář sice vytuší z textu a vzhledu grafů, co chtěla autorka vyjádřit, avšak korektní a zcela srozumitelné by bylo uvést hodnotu parametru p získanou při jednotlivých statistických analýzách (tj. $p > 0,05$; $p < 0,05$; $p < 0,01$ apod.) a na základě zvolené hladiny významnosti 0,05 (neboli 5 %) posoudit, zda pozorované rozdíly v jednotlivých experimentálních skupinách jsou statisticky významné či nikoliv.

Přes uvedené připomínky lze říci, že autorka splnila zadané cíle diplomové práce. Tuto diplomovou práci doporučuji k obhajobě a navrhuji klasifikaci výborně.

B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

- 1) Receptory spřažené s G proteiny (GPCR) mohou obecně vytvářet dimery či oligomery. Můžete uvést, co je známo o dimerizaci, resp. oligomerizaci opioidních či beta-adrenergických receptorů v srdečním svalu?
- 2) Z jakého důvodu nebyla do experimentálních skupin potkanů při různém podávání morfinu zařazena také skupina s abstinencí po nejvyšší dávce morfinu 10 mg/kg za den?
- 3) V popisu analýzy dat pouze stručně uvádíte, že k určení statistické významnosti jste používala t-test a ANOVA test. Můžete upřesnit, které výsledky či skupiny výsledků jste hodnotila kterým testem a proč?
- 4) Neuvažovali jste v rámci této práce také o stanovení funkční aktivity G-proteinů po stimulaci příslušným agonistou, které by vhodně doplnilo tuto strukturní studii?

Stanovisko k opravě chyb v práci

– opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** podmínkou přijetí práce (nehodící se škrtněte)

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE** (nehodící se škrtněte)

Navrhovaná celková klasifikace (ve standardní stupnici 1 až 4): **1**

Datum vypracování posudku: 13. 5. 2013

Podpis oponenta: RNDr. Lenka Roubalová, Ph.D.